Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

Botanische Beobachtungen auf Java.

(I. Abhandlung.)

Über die sogenannte Indigogährung und neue Indigopflanzen

von

Hans Molisch,

c. M. k. Akad.

Aus dem pflanzenphysiologischen Institute d. k. k. deutschen Universität in Prag.

(Mit 1 Tafel.)

Unter dem gemeinsamen Titel »Beobachtungen auf Java« gedenke ich im Laufe der Zeit eine Reihe von vorwiegend pflanzenphysiologischen Untersuchungen in diesen Berichten zu veröffentlichen, die mich während meines Aufenthaltes im Winter 1897/98 auf Java, und besonders im botanischen Garten zu Buitenzorg beschäftigt haben. Indem ich an den Beginn der Veröffentlichung schreite, ist es mir eine angenehme Pflicht, vor allem der kaiserl. Akademie der Wissenschaften zu Wien meinen tiefgefühlten Dank auszusprechen für die Subvention, welche sie mir für meine Tropenreise bewilligte, und durch welche ich in den Stand gesetzt wurde, die Reise überhaupt ausführen zu können.

Im botanischen Garten zu Buitenzorg, dieser grossartig angelegten Tropenstation, die auf die Entwicklung der modernen Botanik bereits einen bedeutenden Einfluss genommen hat und auch in der Folgezeit gewiss nehmen wird, fand ich durch den ausgezeichneten Leiter des Gartens, Herrn Dr. M. Treub, eine in jeder Beziehung nicht genug zu rühmende Unterstützung, deren ich stets dankbar gedenken werde. Zu grossem Danke bin ich auch den Herren Dr. J. M. Janse, Chef der II. Abtheilung und Dr. P. van Romburgh, Chef der III. Abtheilung

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

im Buitenzorger Garten für ihr stets hilfbereites Entgegenkommen, und Hofrath Prof. Dr. J. Wiesner für die freundliche Förderung meiner Tropenreise verpflichtet.

Schon vor mehreren Jahren habe ich mich bemüht, die Verbreitung des Indicans im Pflanzenreiche, den mikrochemischen Nachweis desselben, seine Vertheilung innerhalb der Gewebe und Einiges damit Zusammenhängende zu studiren. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen finden sich kurz zusammengefasst am Schlusse einer in diesen Blättern veröffentlichten Abhandlung[1].

Schon damals hatte ich den Wunsch, meine Beobachtungen weiter fortzusetzen, gewisse Fragen, die sich mir aufdrängten, einer speciellen Untersuchung zu unterwerfen, namentlich aber die sowohl vom theoretischen als auch vom praktischen Standpunkte sehr wichtige Indigoentstehung und Indigogewinnung genauer zu verfolgen. Derlei Aufgaben lassen sich nur an Ort und Stelle in den Tropen, wo Indigopflanzen im Grossen cultivirt werden und Indigo im ausgedehnten Maasse gewonnen wird, lösen, und daher bot mir meine Tropenreise eine willkommene Gelegenheit, meinen langgehegten Plan auszuführen. Während meines Aufenthaltes auf Java habe ich mir vorgenommen, unter Anderen folgende vier Fragen einer Lösung entgegen zu führen[2]:

1. Warum tritt das Indican so auffallend rasch aus den untergetauchten Blättern in das Wasser über?

2. Vermögen Bacterien aus Indican Indigo zu bereiten und sind diese bei der fabriksmässigen Indigoerzeugung betheiligt?

3. Ist die Entstehung von Indican vom Lichte abhängig?

4. Gibt es in den Tropen nicht noch andere Indigo liefernde Pflanzen ausser den bereits bekannten?

---

[1] Hans Molisch, »Das Vorkommen und der Nachweis des Indicans in der Pflanze nebst Beobachtungen über ein neues Chromogen«. Bd. CII., Abth. I. Juni 1893.

[2] Es lag nicht in meiner Absicht, auf den rein chemischen Theil der Indigoentstehung näher einzugehen, denn mir war es hauptsächlich darum zu thun, die Indigofrage vom pflanzenphysiologischen Gesichtspunkte zu behandeln.

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

I. Warum tritt das Indican so rasch aus den Blättern in das Wasser über?

Bei der Indigobereitung im Grossen hat man die merkwürdige Beobachtung gemacht, dass das Indican aus den im Wasser untergetauchten Blättern schon nach 6—7 Stunden in das Wasser übertritt. Van Romburgh, dem wir eine Beschreibung der Indigobereitung auf Java verdanken, theilt bereits mit, dass die frisch geschnittenen *Indigofera*-Pflanzen binnen so kurzer Zeit das Indican abgeben, indem er sagt: »Merkwürdigerweise wird in dieser verhältnismässig kurzen Zeit die den Farbstoff liefernde Substanz zum grössten Theile aus der Pflanze ausgezogen«[1].

Ich muss gestehen, dass mir diese interessante Angabe vom pflanzenphysiologischen Standpunkte sehr räthselhaft vorkam, weil sie mit unseren bisherigen Erfahrungen nicht recht zu vereinbaren war; aber gerade deshalb musste sie — ihre Richtigkeit vorausgesetzt — das Interesse erregen, denn oft wurden schon Entdeckungen gemacht, weil man den Hebel wieder da ansetzte, wo es nicht recht »stimmen« wollte.

Wenn ich früher den Versuch mit einem Blatte oder Zweiglein von *Indigofera* im Kleinen nachahmen wollte, so wollte er nicht recht gelingen, selbst nicht bei einer Temperatur von 28° bis 30° im Wärmekasten. Sollte das Indican wirklich schon in der Zeit von 6—7 Stunden austreten, dann musste, da Indican kein flüchtiger Körper ist, das *Indigofera*-Blatt, in Wasser untergetaucht, schon in der angegebenen Zeit theilweise oder ganz absterben.

Als ich nach Java kam und im agriculturchemischen Laboratorium des Buitenzorger Gartens (zu Tjikeumeuh) meine Versuche begann, wollten diese anfangs auch nicht recht klappen, denn das Indican trat bald auffallend rasch, bald erst nach 24 Stunden, manchmal sogar noch später aus. Anfangs

[1] Siehe den Bericht Dr. van Romburgh's in: Der botanische Garten »'S Lands Plantentuin« zu Buitenzorg auf Java. Seite 373, Leipzig 1893.

Vergl. ferner C. J. van Lookeren-Campagne und P. J. van der Veen, Bericht über Indigountersuchungen. Landwirthschaftl. Versuchsstationen. XLIII. 1894. S. 406.

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

konnte ich mir die Sache nicht recht erklären, bis ich endlich darauf kam, dass es für den Austritt des Indicans von grösster Bedeutung ist, ob man in den mit Wasser gefüllten Glascylinder viel oder weniger beblätterte Zweige gab. Werden in einen mit Brunnen- oder destillirtem Wasser versehenen Glascylinder viele Blätter gebracht, so dass sie dicht gelagert sind, so tritt das Indican bei der im Laboratorium gewöhnlich herrschenden Temperatur von 26—28° C. schon nach 6—7 Stunden, mitunter sogar schon früher aus, die Flüssigkeit fluorescirt alsdann deutlich blaugrün[1] und gibt, mit Salzsäure oder Ammoniak versetzt, Indigoblau. Wird in ein ebenso grosses Gefäss ein Blatt oder ein mit nur 2—3 Blättern versehener Zweig eingetaucht, so dauert es viel länger, oft 24 und mehr Stunden, bis Indican auftritt. Dieser Befund brachte mich auf die Vermuthung, dass die Blätter möglicherweise im Wasser zu wenig Sauerstoff vorfinden, das Bischen Sauerstoff, der im Wasser absorbirt ist, rasch verathmen und dann an Sauerstoffmangel rasch zu Grunde gehen. Die Richtigkeit dieser meiner Vermuthung geht aus folgenden mit *Indigofera Anil* durchgeführten Versuchen hervor.

Versuch. Drei Glascylinder von etwa je $^3/_4$ Liter Inhalt wurden mit destillirtem Wasser — der Versuch gelingt ebenso mit Regenwasser — gefüllt und dann in zwei der Gefässe (*a* und *b*) je ein achtblätteriger Zweig und im Dritten *(c)* fünf solche Zweige völlig untergetaucht. Durch das Wasser von *a* wurde überdies beständig ein langsamer Luftstrom durchgeleitet, um die Blätter mit Sauerstoff zu versehen.

Die Blätter standen im schwachen diffusen Lichte, die Temperatur betrug 25—30° C.

Nach 20 Stunden waren bei

a) Blätter intact. Die Flüssigkeit fluorescirte nicht und war frei von Indican.

[1] Diese Fluoreszenz ist nicht bloss dem Extracte aus *Indigofera,* sondern auch dem von anderen darauf geprüften Indigopflanzungen *(Isatis, Phajus, Marsdenia, Polygonum)* eigenthümlich. Sehr schön sieht man die Fluorescenz, wenn man die indigoliefernde Substanz mit Benzol ausschüttelt, in eine dünne, 7 *mm* dicke und 30 *cm* lange Glasröhre einfüllt, ins Sonnenlicht stellt und von oben betrachtet. Die Flüssigkeitssäule erscheint dann wunderschön blau. Eine solche Lösung, in Benzol auf dem Uhrglas verdampft, lässt farblose Tröpfchen zurück, aus welchen nach einiger Zeit Indigokrystalle anschiessen.

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

b) Blätter im Absterben begriffen, die Flüssigkeit fluorescirt deutlich und enthält Indican.

c) Blätter fast ganz abgestorben. Die Flüssigkeit fluorescirt sehr deutlich blaugrün und enthält reichlich Indican.

Noch nach 72 Stunden war der Zweig *(a)* unversehrt, erst nachher starb er ab und liess Indican austreten.

Dieser Versuch, der mehrmals wiederholt wurde und im Wesentlichen immer dasselbe Resultat gab, beweist, dass es mit Rücksicht auf die Geschwindigkeit des Indicanaustrittes einen grossen Unterschied macht, ob wenig oder viel Blätter in einer begrenzten Wassermasse untergetaucht werden, und ob im Wasser Luft vorhanden ist oder nicht. Mit anderen Worten: sowie die *Indigofera*-Blätter den im Wasser absorbirten Sauerstoff verathmet haben und von diesem abgeschnitten bleiben, sterben sie alsbald ab und lassen aus dem todten und eben deshalb permeabel gewordenen Protoplasma die Farbstoff bildende Substanz austreten.

Ist die eben gegebene Erklärung richtig, dann müssten frisch gepflückte Blätter, in reinen sauerstofffreien Wasserstoff gebracht, in relativ kurzer Zeit ihr Leben einbüssen.

Versuch. Es wurde je ein frischer beblätterter Zweig von *Indigofera Anil* in eine mit Wasser gefüllte Absorptionsröhre gebracht, in der einen das Wasser durch Luft, in der anderen dieses durch reinen (mit Kalilauge und Kaliumpermanganat gewaschenen) Wasserstoff versetzt und die Röhren mit Quecksilber abgesperrt. Der Versuch verlief wie der folgende im schwachen diffusen Lichte und bei 25—30° C.

Als nach 20 Stunden nachgesehen wurde, waren die Luftblätter grün, turgescent, lebendig, die Wasserstoffblätter hingegen missfarbig, schwach bräunlich und abgestorben. An die Luft gebracht, färbten sich die Wasserstoffblätter zusehends dunkel und wurden in Folge der erst in Luft eintretenden Indigobildung schwarzblau.

Die Luftblätter behielten noch 48 Stunden im feuchten Raume an der Luft ihre grüne Farbe, sie waren alle lebendig, obwohl zahlreiche Fiederblättchen in Folge der geringen Lichtintensität des Zimmers und der gehemmten Transpiration abfielen.

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

Versuch. Nach dem Ausfall des vorhergehenden Versuches war es wahrscheinlich, dass der Sauerstoffabschluss schon in viel kürzerer Zeit als 20 Stunden schädigend einwirkt, es wurde daher derselbe Versuch gemacht, aber schon nach 7 Stunden unterbrochen. In der That zeigte sich schon nach dieser Zeit eine deutliche Schädigung der Blätter im Wasserstoff. Die Fiederblättchen waren schon stark angegriffen, verfärbten sich, an die Luft gebracht, mit Ausnahme einiger zerstreuten, lebend gebliebener Stellen, dunkel. Nach 12 stündigem Sauerstoffabschluss trat stets völlige Abtödtung ein.[1]

Immer habe ich gesehen, dass wenn der Tod der *Indigofera*-Blätter im Wasserstoff, also bei Abschluss von Sauerstoff, eintrat, bei sorgfältiger Reinigung des Gases nie eine Indigoblaubildung eintrat. Dies geschah immer erst bei Contact der erstickten Blätter mit Luft. Dann vollzieht sich die Indigoblaubildung sehr rasch, sozusagen unter den Händen des Beobachters.

Als ich frische *Indigofera*-Blätter in einem reinen Strom von (mit Kaliumbicarbonat und Indigweiss gewaschenen) Kohlensäure 24 Stunden beliess und hiedurch abtödtete, trat die Indigobildung erst in dem Momente ein, als ich die Blätter an die Luft brachte.

Herr Dr. van Romburgh theilte mir gütigst mit, dass *Indigofera*-Blätter, welche mit Chloroformdampf rasch abgetödtet und dann sofort in reine CO_2 gebracht wurden, ebenfalls hier kein Indigblau bilden, sondern erst, wenn sie mit Luft in Berührung kommen. Ich hatte auch Gelegenheit, mich von der Richtigkeit dieser Angabe thatsächlich zu überzeugen.

In Übereinstimmung hiermit wurde schon früher von anderer Seite[2] gezeigt, dass das Pflanzenindican, durch Salz-

[1] Normale *Indigofera*-Blätter sind auch gegen andauernden Lichtabschluss und gegen ungewohnte Hemmung der Transpiration von einer geradezu überraschenden Empfindlichkeit. Auf derlei äussere Einflüsse antwortet die Pflanze schon nach 1—2 Tagen mit dem Laubfall.

[2] E. Schunk und H. Roemer, »Über die Zersetzung des Pflanzenindicans bei Abschluss der Luft«. Ber. der deutsch.-chem. Gesellsch. XII. Jahrgang. Berlin 1897. S. 2312.

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

säure bei Abschluss der Luft zersetzt, weder Indigblau noch Indigweiss bildet. Um so auffallender muss nach dem Gesagten die Beobachtung von Kunisch erscheinen, der zu Folge indicanhältige *Calanthe*-Blüthen, nachdem sie in reiner Kohlensäure gefroren, auch hier blau werden sollen.[1] Mit Rücksicht auf die vorhergehenden Untersuchungen wird man wohl zu der Annahme neigen müssen, dass entweder die Kohlensäure im Versuche von Kunisch mit Sauerstoff verunreinigt war oder die Versuchsblüthen selbst noch genug Sauerstoff für die Indigobildung enthielten.

Nach diesen Ergebnissen mit *Indigofera* ging ich daran, zu prüfen, ob auch andere Indigopflanzen, z. B. *Isatis tinctoria, Polygonum tinctorium* und *Marsdenia tinctoria* bei Sauerstoffabschluss so rasch ersticken.

Versuche mit *Isatis*. Gibt man möglichst viel unverletzte Blätter vom Waid in die Kugel eines Scheidetrichters, giesst so lange destillirtes Wasser darüber, bis die Luft vollends verdrängt, die Kugel also von Blattmasse und Wasser ganz erfüllt ist, schliesst dann von Luft ab und gibt das Ganze in den Wärmekasten bei 29° C., so erhält man schon nach 5 Stunden eine schön blaugrün fluorescirende Flüssigkeit von Indican.[2] Schon

---

[1] H. Kunisch, Über die tödliche Einwirkung niederer Temperatur auf die Pflanzen. Inaugur. Dissertation 1880, Breslau, S. 38.

[2] Frische bei 29° im Scheidetrichter, bei möglichstem Sauerstoffabschluss gewonnene Indicanlösungen aus *Isatis* zeigen ein eigenthümliches Verhalten an der Luft. Ursprünglich im durchfallenden Lichte hellgelb und im auffallenden blaugrün fluorescirend, werden sie an der Luft stehend bald braun, wobei die Fluorescenz und das Indican völlig verschwindet und nur Spuren von Indigo gebildet werden.

Bringt man solches frisches Extract in grössere schmale Standcylinder und bedeckt man in dem einen Falle das Extract mit einer 3 *cm* dicken Ölschicht *(A)*, in dem anderen aber nicht *(B)*, so zeigt sich bei Zimmertemperatur (19°):

Nach $3^1/_2$ Stunden *A* unverändert,
B bräunlich, aber noch fluorescirend und indicanhältig.
» 6 » *A* unverändert,
B braun, schwach fluorescirend und wenig indicanhältig.

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

während dieser verhältnissmässig kurzen Zeit tritt der grösste Theil der Farbstoff bildenden Substanz aus den Blättern heraus.

Ich machte dann denselben Versuch

bei 29° C. (*A*)

bei 19° C. (*B*),

tauchte je einen Zweig in ein Fünfliter-Gefäss, so dass die Blätter sich ganz unter Wasser befanden und stellte den einen bei 29° C. (A_1) und den anderen bei 19° (B_1) auf.

Nach $5^1/_2$ Stunden war bei

A der grösste Theil des Indicans ausgetreten, die Flüssigkeit fluorescirte schön blaugrün.

Bei *B* war noch kein Indican extrahirt, ein Beweis, dass die Temperatur einen grossen Einfluss auf das Ersticken der Blätter hat. Nach 23 Stunden fluorescirte die Flüssigkeit bereits stark und enthielt viel Indican.

Hingegen waren die Zweige A_1 und B_1 nach 23 Stunden noch vollkommen intact, da die Blattmasse gering, die Wassermasse und der darin absorbirte Sauerstoff aber relativ gross war.

Es wurden dann dieselben Versuche wie mit *Indigofera* in Wasserstoff und Luft auch mit Waidsprossen und *Polygonum tinctorium*-Sprossen gemacht, und zwar mit im Wesentlichen demselben Resultat.

Zweige vom Waid wurden bei 19° in reinem Wasserstoff schon so geschädigt, dass sie ihre Lebensfähigkeit einbüssen, bei 29° ist derselbe Effect schon nach 6—10 Stunden erreicht.[1]

Blätter von *Polygonum* geben nach 12 Stunden im Scheidetrichter bei Luftabschluss und 29° C den grössten Theil ihres Indicans an Wasser ab, und junge Pflanzen (7 *cm* hoch) werden im Wasserstoff nach 24 Stunden erheblich geschädigt, nach 48 Stunden getödtet.

Nach 24 Stunden *A* unverändert, stark indicanhältig, *B* braun und indicanfrei.

Es verschwindet demnach bei Sauerstoffzutritt das Indican einer solchen Lösung schon binnen 24 Stunden, bei Sauerstoffabschluss aber nicht.

[1] Bei in Wasserstoff erstickten *Isatis*-Blättern habe ich eine eigenthümliche Beobachtung gemacht. Blätter, die 24 Stunden in reinem Wasserstoff verweilten, enthielten keine Spur von Indican. Weder mikro- noch makroskopisch konnte ich eine Spur von Indican, beziehungsweise Indigoblau constatiren.

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

Auf Grund der angeführten Experimente lässt sich daher schliessen: *Indigofera*-Blätter — dasselbe gilt auch von Weid- und Färbeknöterichblättern[1] — sind gegen Sauerstoffabschluss so empfindlich, dass sie bereits nach siebenstündigem Sauerstoffentzug stark geschädigt, nach 12 Stunden gewöhnlich getödtet werden, und dies ist auch die Ursache der auf den ersten Blick so merkwürdigen Thatsache, dass bei der Indigobereitung im Grossen die frisch in das Wasser gebrachten und untergetauchten Blätter bei den auf Java herrschenden Temperaturen schon nach 7 Stunden absterben und ihr Indican der Hauptmasse nach austreten lassen.

II. Vermögen Bakterien aus Indican Indigo zu bereiten und sind diese bei der fabriksmässigen Indigoerzeugung betheiligt?

Vor mehr als 10 Jahren zeigte Alvarez,[2] dass ein wässeriges sterilisirtes Extract von *Indigofera*-Blättern monatelang stehen kann, ohne Indigo abzuscheiden, während dasselbe Extract mit Luftkeimen in Contact rasch auf der Oberfläche ein Indigohäutchen bildet. Als er das blaue Häutchen untersuchte, fand er es zusammengesetzt aus zahlreichen Bakterien und Indigokryställchen. Er isolirte dann daraus einen Kapselbacillus, welcher in besonderem Grade die Eigenschaft besass, Indican zu spalten und fand dann weiter, dass auch der Erreger der Pneumonie, und des Rhinoscleroms diese Fähigkeit besitzt, einige andere von ihm untersuchte Bakterien aber nicht.

Aus diesen Versuchen zog Alvarez, obwohl er seine Experimente nur im Kleinen im Laboratorium machte und anscheinend nicht Gelegenheit hatte, die Indigobereitung im Grossen zu sehen, den Schluss, dass der Indigo ein Product

[1] Ich behalte mir vor, an anderem Orte zu zeigen, dass das relativ rasche Absterben der Blätter und anderer Pflanzentheile in sauerstofffreiem Raume eine weit verbreitetere Erscheinung ist und durchaus nicht etwa bloss auf die Indigopflanzen beschränkt ist.

[2] Alvarez E., Sur un nouveau microbe, déterminant la fermentation indigotique et la production de l'indigo bleu. Comptes rendus, CV. (1887) p. 286—289.

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

einer durch eine specielle Bakterie (par un microbe spécial) hervorgerufenen Fermentation sei. Mit welchem Rechte werden wir gleich sehen.

Meiner Meinung war Alvarez — die Richtigkeit seiner Experimente auch zugegeben — nicht berechtigt, die erwähnten Schlussfolgerungen zu ziehen, denn seine Experimente beweisen durchaus nicht, dass nur ein specielles oder nur einige wenige Bakterienarten Indican in Indigweiss, beziehungsweise Indigo zu spalten vermögen; überdies lassen sie uns auch ganz im Unklaren darüber, ob die indigobildenden Bakterien, welche Alvarez bei seinen Laboratoriumsversuchen beobachtet hat, auch bei der Indigogewinnung im Grossen auftreten und hier eine Rolle spielen. Zudem hat der genannte Forscher die Möglichkeit ganz übersehen, dass auch ein in der Pflanze vorkommendes Ferment die Spaltung des Indicans unter gewöhnlichen Umständen vollführen könnte und dass die Indigobildung in sterilisirten *Indigofera*-Auszügen vielleicht nur desshalb unterbleibt, weil das natürliche Enzym des Blattes durch das Sieden unwirksam gemacht wird.

Mit Rücksicht darauf dürfte es auch von Interesse sein, die Stimme eines Mannes[1] zu vernehmen, der als Chemiker die Indigobereitung auf Java studirt, kennen gelernt und, augenscheinlich unbekannt mit der Arbeit von Alvarez, sich folgendermassen äussert: »Wiewohl es nicht unmöglich ist, dass Bakterien bei der auf Java üblichen Arbeitsmethode die genannte Zerlegung des Indicans beeinflussen, findet jedoch die Zersetzung des Glykosids bei Ausschluss von Bakterien ebenso gut statt...«

Versuche über die An- oder Abwesenheit von Bakterien in fermentirten *Indigofera*-Extracten finden sich allerdings in den Arbeiten von van Lookeren—Campagne nicht.

Wenn man eine von Indigblau freie Indicanlösung aus *Indigofera* erhalten will, so ist es nothwendig, die frisch gepflückten *Indigofera*-Blätter in bereits siedendes Wasser rasch unterzutauchen, das Wasser etwa 1—3 Minuten in siedendem Zustande zu erhalten und dann etwa 1 Stunde bei gewöhnlicher

[1] C. J. van Lookeren—Campagne etc., l. c., Bd. XLIII.

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

Temperatur stehen zu lassen. Würde man den Versuch so machen, dass man die Blätter zuerst in kaltes Wasser legt und dann allmälig auf 100° bringt, so wird durch den Einfluss eines in den Zellen vorkommenden Körpers bei relativ niedriger Temperatur etwas Indigblau gebildet — ein Umstand, der für unsere Versuche unerwünscht wäre. Die Blätter müssen also möglichst rasch abgetödtet werden.

Ich nahm auf etwa 50 cm^3 Regenwasser eine grosse Hand voll frische Blätter. Das daraus erhaltene Extract hält sich wochenlang,[1] ohne Indigblau abzuscheiden. Sowie man aber den Wattepfropf für einige Zeit entfernt, so dass Keime einfliegen können, tritt Indigobildung alsbald ein.

Um den Einfluss verschiedener Bakterien kennen zu lernen, ist es zweckmässig, Indican mit Agar, also einem erstarrenden Nährboden, zu mengen. Ich mischte zumeist $^1/_1$ Volum des erwähnten Indicanextractes mit 1 Volum Agarnährboden, wie er für bakteriologische Untersuchungen gewöhnlich verwendet wird.

Eine Petrischale mit sterilisirtem Indican-Agar beschickt, bleibt unverändert, d. h. es bildet sich, so lange keine Infection eintritt, kein Indigblau. Anders jedoch, wenn man denselben Versuch macht, mit dem Unterschied, dass man den Nährboden vorher mit einem Tropfen Flusswasser — ich nahm das durch den Buitenzorger Garten fliessende Wasser — versetzt. Nach 24 Stunden treten dann bei gewöhnlicher Zimmertemperatur (in Buitenzorg gewöhnlich 24—30°) viele Bakteriencolonien auf, die durch ihre Farbe sofort verrathen, ob sie Indigo bilden können oder nicht. Viele der Colonien sind tiefblau, viele hellblau und nicht wenige von natürlicher Farbe, nämlich weisslich oder weissgelblich. Untersucht man diese Colonien bei schwacher Vergrösserung, so sieht man deutlich auf den Colonien und um dieselben herum rundliche Schüppchen oder Körnchen, seltener Kryställchen von Indigblau. Am dichtesten gelagert findet man die Indigopartikelchen um die Peripherie

[1] Nach Monaten oder Jahren verschwindet das Indican, ohne dass hiebei Indigblau gebildet wird. Bei der Behandlung mit heissem Wasser erleidet die Indigo liefernde Substanz bereits eine kleine Veränderung, sie büsst ihre Fluorescenz ein und gibt mit Ammoniak nicht mehr Indigo.

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

der Colonie; mit der Entfernung von ihrem Rande nimmt die Indigomenge ab. Solche Colonien erscheinen, mit blossem Auge betrachtet, mit einem blauen Hofe umgeben, dessen Ausdehnung die Wirkungssphäre der Bakteriencolonie auf das Indican deutlich erkennen lässt.

Die mikroskopische Untersuchung lehrte, dass die tiefblauen Colonien anderen Bakterien angehörten als die hellblauen und diese wieder anderen als die ungefärbten.

Bei oftmaliger Wiederholung derartiger Versuche überzeugt man sich, dass sehr viele in der Natur sehr verbreitete tropische und europäische Bakterienarten Indican in Indigblau überführen, jedoch viele Arten nicht.

Um dies besser zu begründen, habe ich in Europa eine Reihe gut bestimmter Bakterien auf ihre indigobildende Kraft untersucht und in diese Untersuchungen auch Hefe- und Schimmelpilze einbezogen.

Sämmtliche Culturen wurden mit Agar-Polygonum-Indican bei einer Temperatur von 30—31° C. durchgeführt.

Von Pilzen, welche bei meinen Versuchsbedingungen Indican nicht in Indigo überzuführen vermögen, führe ich an: *Streptococcus pyogenes, Staphylococcus pyogenes aureus, Bacillus subtilis* Ehrbg., *Bacillus coli communis*,[1] *Bacillus fluorescens liquefaciens* Flügge, *Bacillus megatherium* de Bary und Presshefe.

Hingegen bewirkten Umwandlung von Indican zu Indigblau:[2] *Bacillus anthracis, Bacillus prodigiosus* Flügge, *Cladothrix odorifera* (siehe Fig. 5) Rullm. und *dichothoma* Cohn, *Sarcina lutea*, *Penicillium* sp. und *Mucor Mucedo*.

Die Blaufärbung der Colonien tritt bei den Bakterien oft erst am dritten bis fünften Tage auf. Gewöhnlich bleiben die Bakterien selbst ungefärbt, die Indigopartikelchen liegen ausserhalb der Zellen, doch färben sich die Bakterien mitunter auch

[1] Aus einem wässerigen Extract von Färbeknöterichblättern vermag jedoch diese Bakterie Indigo zu bereiten, woraus hervorgeht, dass das Substrat für solche Versuche von Bedeutung sein kann.

[2] Diese Umwandlungsfähigkeit ist eine so charakteristische Eigenschaft gewisser Bakterien, dass ich ihre Verwerthung für die bacteriologische Diagnostik auf das Wärmste empfehlen möchte.

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

selbst, ganz oder streckenweise tiefblau. Ob schon im lebenden oder erst im todten Zustande, ist hier bei der Kleinheit dieser Organismen schwer zu entscheiden.

Bei *Penicillium* sind die Rasen zuerst blaugrün, werden später namentlich im Centrum tiefblau und erhalten, sobald die Indigoabscheidung ihren höchsten Grad erreicht hat, oberflächlich den für Indigo charakteristischen Kupferglanz. Die Hauptmasse der Färbung rührt von Indigoschüppchen her, die im Bereiche der Räschen abgeschieden werden. Es sind aber auch viele Fäden selbst theilweise mit Indigokörnchen erfüllt (Fig. 3). Man findet Hyphen, deren Zellen auf weite Strecken mit Farbstoff versehen sind, entweder gleich von der Spitze des Fadens an oder erst weiter entfernt davon. Häufig wechseln in ein und demselben Faden blaue Strecken mit ganz farblosen ab. Einzelne Zellen sind vollends erfüllt, so dass man vom Plasma nichts sieht, andere nur zur Hälfte, andere endlich nur mit wenigen Körnchen. Die Fäden, welche Indigblau speichern, vermögen dies schon im lebenden Zustande, denn wenn die Speicherung beginnt, so zeigt das Plasma noch das charakteristische vacuolige Aussehen des lebenden, und überdies zeigen solche Zellen beim Hinzufügen einer zehnprocentigen Kochsalzlösung Plasmolyse. Auch bei *Mucor* liess sich im Wesentlichen dasselbe beobachten (Fig. 4).

Ich habe seinerzeit[1] besonders hervorgehoben, dass in den lebenden Zellen der Indigopflanzen niemals Indigblau gebildet wird, daher scheint es um so auffallender, dass in lebenden Pilzzellen Indigo auftritt. Wir müssen entweder annehmen, dass die Pilzzelle das Indican absorbirt und im Zellinhalt in Indigblau überführt, oder dass die Pilzzelle das in ihrer Umgebung durch Ausscheidung eines Stoffes erzeugte Indigblau in geringen Mengen zu lösen vermag und dann erst aufnimmt und speichert. Welche von beiden Möglichkeiten zutrifft, wage ich nicht zu entscheiden.

Aus den Untersuchungen ergibt sich, dass verschiedene Bakterien und ebenso gewisse Schimmelpilze die Fähigkeit haben, aus Indican Indigo zu machen, doch

[1] Hans Molisch, l. c. S. 289.

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

darf daraus nicht ohne weiteres geschlossen werden, dass auch die Indigobildung in der *Fabrik* durch Bakterien bewerkstelligt wird. Es wird sich vielmehr zeigen, dass die Indigofabrication keine Bakterienwirkung ist.

In der Umgebung von Buitenzorg, überhaupt auf Westjava, finden sich keine grösseren Indigopflanzungen. Um solche zu sehen und kennen zu lernen, musste ich mich nach Mitteljava begeben, wo namentlich in den Residenzen Soerakarta, Djocjakarta, Kedirie, Semarang, Pekalongan und Tegal der Indigobau im grossen Maassstabe betrieben wird und ausgedehnte Culturflächen mit *Indigofera* bepflanzt sind. Klaten bildet gewissermassen die Centrale dieses Districtes, und hier befindet sich auch die Versuchsstation für Indigo, mit welcher derzeit nicht weniger als 46 Indigounternehmungen verbunden sind.

Der gegenwärtige Director der Station, Herr Hazewinkel, hatte die Güte, mich in liebenswürdigster Weise hier aufzunehmen, mir die Indigofabriken der nächsten Umgebung in ihrem Betriebe, desgleichen die Indigopflanzungen genauer zu zeigen und mir ausserdem zu gestatten, an der Versuchsstation zu arbeiten. Hiefür spreche ich Herrn Hazewinkel meinen herzlichsten Dank aus.[1]

Die *Indigofera*-Samen werden — man verwendet derzeit gewöhnlich Natal-, seltener Guatemata-Indigo, von denen es sehr zahlreiche Varietäten gibt — entweder direct auf dem Felde ausgesäet oder man zieht auf besonderen Beeten junge Pflanzen heran, die dann auf den Acker überpflanzt werden, und zwar $^2/_3$ *m* von einander entfernt. Gedüngt wird ausschliesslich mit dem ausgelaugten Laub von *Indigofera*.

Beiläufig 100—120 Tage nach der Überpflanzung kann bereits geerntet werden, und nach diesem zumeist im November erfolgenden ersten Schnitt kann dann im Jänner noch ein zweites Mal und Anfangs März noch ein drittes Mal geschnitten werden. Darauf baut man Reis oder man lässt die Pflanzen,

[1] Zu grossem Danke bin ich auch dem Indigofabrikanten Herrn M. E. Beroets und Herrn Voorwyk für die liebenswürdige Bereitwilligkeit, mit der sie mir den Besuch der Fabriken gestatteten, verpflichtet.

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

falls noch auf einen vierten Schnitt gerechnet wird, noch weiter wachsen.

Das Indigoergebniss bei den verschiedenen Ernten ist nicht gleich, denn unter normalen Verhältnissen verhalten sich die von denselben Pflanzen gewonnenen Ernten wie 5 : 4·5 : 3. Ist die Entwicklung der Saat vor dem ersten Schnitt durch Trockenheit stark gehemmt, so kann die zweite Ernte ergiebiger ausfallen als die erste.

Die zum Extrahiren bestimmten belaubten Sprosse werden zeitlich morgens,[1] 5 Uhr, geschnitten und rasch auf Wagen in die Fabrik gebracht. Die geernteten Sprosse sind $^1/_2$—1 *m* oder darüber lang. Manche Pflanzer lassen am Strauche einen Spross stehen, weil sonst die zurückbleibenden Aststummel stark bluten.

In der Fabrik angekommen, werden die Zweige in grosse, wohl auscementirte, rechteckige Steinbassins schief aufrecht dicht über einander geschichtet, die oberste Lage mit einigen Bambusrohren bedeckt, auf welche senkrecht dazu schwere Druckbalken zu liegen kommen, um die Sprossmasse unter Wasser niederzuhalten. Ist die Arbeit soweit gediehen, so lässt man hierauf das Wasser in den Bassins einlaufen, bis die ganze Blattmasse unter Wasser taucht und das Wasser etwa 10 *cm* über die Pflanzen emporragt. Die Bassins sind ziemlich gross. Ein von mir gemessenes war 15 Schritte lang und 10 Schritte breit. Sie liegen im Freien und sind bloss durch ein Dach gegen Regen und Sonne geschützt.

Hier auf Java wird in allen mit der Versuchsstation arbeitenden Fabriken dem in die Bassins eingelassenen Wasser nach dem Vorschlage von van Lookeren-Campagne eine gewisse Menge Kalk zugesetzt, deren Grösse nach den Erfahrungen Herrn Hazewinkel's von der Alkalescenz des verwendeten Wassers abhängig gemacht werden muss.[2] Und zwar

[1] Meiner Meinung nach dürften die Blätter Abends indicanreicher sein als Morgens; es würde sich daher aus diesem Grunde empfehlen, die Sprosse nicht Morgens, sondern Abends zu schneiden. Da aber die Extraction gleich erfolgen muss und Nachts nicht bequem durchgeführt werden könnte, so wird es wohl bei dem bisherigen üblichen Verfahren auch weiterhin bleiben müssen.

[2] Hazewinkel J. J., Proefstation voor Indigo te Klaten. Bulletin Nr. 1, Jogjakarta, 1897.

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

wird entweder Wasser von gewöhnlicher Temperatur oder gleichfalls auf den Vorschlag von van Lookeren-Campagne Wasser von über 50° C.[1] verwendet.

Der Kaltwasserbetrieb. Selbst wenn man sich des kalten Wassers bedient — dasselbe hatte in einem von mir beobachteten Falle eine Temperatur von 25·3° C. — vollzieht sich der Indicanaustritt relativ sehr schnell, nämlich nach 6—9 Stunden. Die Flüssigkeit ist am Ende der Extraction oberflächlich klar und nicht auffallend gefärbt. Eine von der Oberfläche geschöpfte Eprouvette zeigt eine schwache Fluorescenz und eine ganz schwache gelbliche Färbung. Anders aber, wenn man das Wasser aus den unteren Schichten aufrührt. Da sieht man sofort Wolken der stark grünblau fluorescirenden Flüssigkeit aufsteigen, und eine Eprouvette solchen Wassers geschöpft, weist eine stark blaugrüne Fluorescenz, starke Indicanreaction und im durchfallenden Lichte eine gelblichgrüne Farbe auf. Es war für mich von Interesse, zu sehen, dass die oberflächlich gelegenen Sprosse vielfach noch recht gut erhalten und lebend waren, die tiefer und tief gelegenen Blätter aber jene eigenthümlich schmutziggrüne oder bleigraue Farbe besassen, wie sie den im Wasser abgestorbenen *Indigofera*-Blättern zukommt. Dies steht in vollkommenem Einklang mit meiner Erklärung, der zu Folge die Blätter im Wasser deshalb so rasch absterben, weil sie wegen Sauerstoffmangel ersticken. Über die Oberfläche des Wassers streicht der Wind; er erzeugt eine wellenartige Bewegung, wodurch der von den oberen Blättern verathmete Sauerstoff theilweise ersetzt wird, während zu den tiefer gelegenen Sprossen nicht mehr genügend Sauerstoff zutritt, so dass sie früher absterben und eben deshalb Indican reichlicher auftreten lassen.[2]

[1] Genauer darf ich mich über den Temperaturgrad nicht aussprechen, da dies als Fabriksgeheimniss betrachtet wird.

[2] Meiner Ansicht nach werden bei dem auf Java üblichen Verfahren die oberflächlich gelegenen Sprosse, da ein grosser Theil ihrer Blätter, wie ich mich überzeugte, noch am Leben bleibt, nicht gehörig ausgebeutet, da lebende Blätter ihr Indican nicht abgeben. Eine Prüfung von oberflächlich gelegenen Sprossen, die, als völlig ausgelaugt betrachtet, fortgeworfen wurden, ergab noch eine ziemlich reiche Indigoausbeute. Ich würde den Praktikern empfehlen, die Durchlüftung an der Oberfläche entweder durch eine höhere Wasserschichte oder

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

Wenn man nun, unmittelbar bevor das Extractionswasser abgelassen wird, Proben des Extractes von verschiedenen Punkten, von der Oberfläche und aus tieferen Lagen an Ort und Stelle mikroskopisch prüft, so findet man zwar bereits kleine Kryställchen oder krystallinische Aggregate von Indigo, aber so gut wie keine Bakterien. Man muss mehrere Tropfen im Mikroskop durchmustern, um überhaupt eine Bakterie aufzufinden. Würden Bakterien die Spaltung des Indicans in Indigweiss und Zucker besorgen, so müsste ihre Menge eine sehr grosse sein, ihre Zahl ist aber sicher eine sehr geringe und nach meinen mikroskopischen Beobachtungen nicht oder unbedeutend grösser als in dem verwendeten Wasser vor der Zuleitung in die Bassins.

Dass die wenigen vorhandenen Bakterien bei dem Process der Indigobereitung keine Rolle spielen, geht auch daraus hervor, dass man in den Fabriken Alles thut, um Bakterien ja nicht aufkommen zu lassen, denn so wie die Bassins abgelassen werden und die Klopfer zur Ruhe gekommen sind, werden beide auf das Sorgfältigste mit Carbolsäure gereinigt! Wird dies verabsäumt und die Reinlichkeit vernachlässigt, dann treten reichlich Bakterien auf, es tritt, wie der Javane sich ausdrückt, »Moeroeh« (sprich Muruh) auf, d. h. die Indigobildung unterbleibt völlig oder nahezu ganz, weil durch auftretende Bakterien andere, die Indigoentstehung hemmende Umsetzungen um sich greifen.

Nach acht- bis zehnstündigem Aufenthalt im Extractionsbassin wird das Wasser abgelassen. In mächtigem grünlichen Strom ergiesst sich das Extract in ein anderes Bassin, schon nach wenigen Minuten bildet sich himmelblauer Schaum, die Klopfer, welche an einer Längsaxe in einer Schraubenlinie senkrecht zur Längsaxe befestigt sind, setzen sich in kreisende Bewegung, tauchen ein, erheben sich beladen mit Flüssigkeit, um diese gleich darauf wieder ablaufen zu lassen, kurz es wird die Flüssigkeit in sehr praktischer Weise ordentlich mit

---

durch Abhaltung der Luftströmungen oder sonst irgendwie möglichst zu hemmen, um das Ersticken der Blätter zu fördern.

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

Luftsauerstoff in Berührung gebracht und hiedurch das gesammte Indigweiss in etwa 2 Stunden in Indigblau übergeführt. Malayische Arbeiter zertheilen, am Rande des Bassins stehend, mit Schaufeln den während des Klopfens sich an der Oberfläche bildenden Schaum, wodurch die Durchlüftung ebenfalls gefördert wird.

Erwähnen will ich noch, dass die aus den Extractionsbassins ablaufende Flüssigkeit unmittelbar vor ihrem Eintritt in die Klopfbassins mit Ätzkalklösung vermischt wird, eine Procedur, die die Indigobildung und Abscheidung in hohem Grade fördert.[1]

Der in den Klopfbassins abgesetzte Rohindigo oder, wie der technische Ausdruck lautet, die »Rohpappe«, wird nunmehr noch einer gründlichen chemischen Reinigung unterworfen, das gereinigte Product in Form kleiner Ziegel gepresst und schliesslich in künstlich gewärmten Kammern getrocknet.

Warmwasserbetrieb. In den Fabriken fängt man seit einigen Jahren an, nicht mit Wasser von gewöhnlicher Temperatur, sondern mit Wasser von über 50° zu extrahiren. Die Erfolge sind, wie ich mich überzeugte, sehr gute und die ganze Procedur eine wesentlich beschleunigte, da die Extraction des Indicans in viel kürzerer Zeit erfolgt. Während bei dem Kaltwasserverfahren, wie ich festgestellt habe, das Blatt das Farbstoffglykosid erst abgibt, wenn es keinen Sauerstoff mehr hat und aus diesem Grunde abstirbt, wird das Blatt in dem warmen Wasser nach ganz kurzer Zeit, sobald es die höhere Temperatur des Wassers angenommen hat, vom Tode ereilt.[2] Daher sieht man denn auch die Flüssigkeit schon nach der ersten Viertelstunde in Folge des Indicanaustrittes blaugrün fluoresciren. Die Blätter bleiben nur etwa 3—5 Stunden im warmen Wasser; während dieser relativ kurzen Zeit ist die Extraction des Glykosides in Folge der höheren Temperatur, die bis zum Schlusse der Manipulation sich auf beträchtlicher Höhe hält,

[1] Gleichfalls ungemein fördernd wirkt nach meinen Versuchen mit bei normaler Temperatur gewonnenen *Polygonum*-Extract, ein Zusatz von sehr wenig Kalilauge.

[2] Die obere Temperaturgrenze des Lebens liegt bekanntlich bei höheren Pflanzen zumeist bei 45° C. oder knapp darüber.

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

beendigt. Im Übrigen gleicht der Warmwasserbetrieb ganz dem Kaltwasserverfahren.

Die mikroskopische Untersuchung des Extractionswassers ergab hier dasselbe Resultat wie früher bei dem Kaltwasserbetrieb: die relativ hohe, für die meisten Bakterien kritische Temperatur spricht gleichfalls gegen eine Entwickelung und Gärthätigkeit von Bakterien im Extractions- oder Klopferbassin; man könnte höchstens an thermogene Bakterien denken, die auf höhere Temperaturen gestimmt sind. Von der Entwickelung solcher war aber nichts zu bemerken.[1]

[1] Die eben gegebene Darstellung bezieht sich — dies sei ausdrücklich betont — auf die in Java übliche Bereitung von Indigo. In anderen Ländern mag sich vielleicht die Sache anders verhalten, zumal wenn andere Indigopflanzen verwendet werden, wie z. B. in Japan, Korea und China, wo als Hauptindigopflanze der Färbeknöterich, *Polygonum*, seit langer Zeit verwendet wird. Der ausgezeichnete Kenner Japans, Prof. J. Rein, schreibt über die Gewinnung von Indigo aus dem Färbeknöterich wörtlich Folgendes: »Die Blätter breitet man an der Sonne zum Dörren aus, und zwar oft ohne jede Unterlage vor den Häusern, so dass der Strassenstaub nicht ausgeschlossen bleibt. Sie werden dadurch mattdunkelgrün und kommen in diesem Zustande in Strohseilsäcke zur Aufbewahrung für weitere Behandlung. Diese erfordert 70—80 Tage Zeit und unterscheidet sich dadurch und sonst sehr wesentlich von den kurzen Macerationsprocessen, durch welche man anderwärts aus anderen Gewächsen Indigo gewinnt. Es ist eine Art Gährungsprocess, welcher mit viel Aufmerksamkeit und Geschick geleitet werden muss. Dabei werden die Blätter mit einer bestimmten Menge Wasser benetzt und gemengt, dann ausgebreitet und 3 bis 5 Tage lang mit Matten bedeckt sich selbst überlassen. Hierauf wiederholt man dies Verfahren im Ganzen 9—20mal, bringt die Blätter schliesslich in einen hölzernen Mörser, in welchem man sie während zweier Tage in eine teigige Masse von dunkelblauer Farbe verarbeitet. Man macht daraus Ballen von der Dicke der Billardkugeln und darüber und bringt sie so in den Binnenhandel. Es ist dies Indigo mit vielerlei Verunreinigungen, wie er allgemein zum Blaufärben dient.... Vor 10 Jahren wurden mit Unterstützung der Regierung Versuche angestellt, um mit Hilfe von Schwefelsäure aus diesen Aitama (Indigokugeln) Indigoblau abzuscheiden und zur Ausfuhr zu bringen. Dieselben scheiterten aber an der Kostspieligkeit des Verfahrens«. Rein, Japan nach Reisen und Studien. II. Bd., S. 205.

Aus dieser Schilderung ist zu ersehen, dass das in Japan übliche Verfahren ein sehr primitives, ungemein langwieriges und vom theoretischen Standpunkte wohl leicht zu verbesserndes ist. Beim Eintrocknen der Blätter wird, nach meinen mit selbst gezogenen *Polygonum*-Pflanzen gemachten Erfahrungen, ein

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

Wenn nun Bakterien bei der fabriksmässigen Erzeugung von Indigo die Spaltung des Indicans nicht herbeiführen, wodurch wird dieselbe dann bewerkstelligt?

Es lässt sich leicht zeigen, dass ein in den Zellen vorkommender Körper die Spaltung besorgt, es lässt sich aber überdies noch Einiges dafür anführen, welches sehr dafür spricht, dass dieser Körper wahrscheinlich ein Ferment ist.

Wenn man frische *Indigofera*-Blätter — dasselbe gilt auch von allen anderen daraufhin von mir geprüften Indicanpflanzen (*Isatis*, *Polygonum*, *Phajus*, *Calanthe*, *Marsdenia* etc.) — in Alkohol- oder Chloroformdampf bei Luftzutritt abtödtet, so wird innerhalb der Zelle das Indican in Indigblau übergeführt, also sicher ohne Bakterien.

Innerhalb der Zellen könnten nach unseren derzeitigen Erfahrungen Säuren oder Alkalien oder ein Ferment die Spaltung durchführen. Wären es die beiden ersteren, dann sollte man erwarten, dass auch in einem sterilisirten Extract der *Indigofera* diese die Spaltung bewerkstelligen. Dies ist aber, wie wir wissen, nicht der Fall. Sterilisirte Extracte geben spontan kein Indigblau.

Würde ein in den Zellen sich vorfindendes Ferment die Indigobildung vermitteln, dann stünde zu erwarten, dass ein rasch im siedenden Wasser abgetödtetes Blatt spontan weder

---

grosser Theil des Indicans unter dem Einfluss des Zellinhaltes innerhalb der Zellen als (unlöslicher) Indigo abgeschieden. Ein rationelles Verfahren muss aber meiner Meinung nach in erster Linie darauf hinarbeiten, das Indican zu extrahiren und ausserhalb des Blattes in Indigo überzuführen, weil hiedurch schon ein relativ reines Product erlangt wird. Dies dürfte auch nicht schwer zu erzielen sein, da *Polygonum*-Blätter ähnlich wie die von *Indigofera* etwa innerhalb 12 Stunden bei Sauerstoffabschluss im Wasser ersticken und das Glykosid austreten lassen.

In historischer Beziehung ist es von Interesse, dass auch in Europa, und zwar in Belgien (Morren M. Ch., Memoire sur la formation de l'indigo dans les feuilles du *Polygonum tinctorium* ou renouée tinctoriale. Acad. royale des sciences et belles lettres de Bruxelles, 1838) und Österreich Anbauversuche mit dem Färberknöterich gemacht und dass man sogar in der Umgebung von Krumau (J. Dušek, Anleitung zur Cultur des Färberknöterichs in Mitteleuropa und zur hierländischen Indigobereitung, Prag 1872) in Böhmen Indigo aus dieser Pflanze, und zwar in ähnlicher Weise wie aus *Indigofera* auf Java durch Einlegen der abgeschnittenen Sprosse in Wasser gewonnen hat.

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

an der Luft, noch im Alkohol- oder Chloroformdampf Indigblau bildet, da durch die hohe Temperatur das Ferment unwirksam gemacht wird. Dies ist nun thatsächlich der Fall; ein abgebrühtes Blatt bildet kein oder nur wenig Indican, und es wird somit aus den angeführten Gründen sehr wahrscheinlich, dass bei der Indigoerzeugung im Grossen, da Bakterien sicher nicht in Betracht kommen, ein in den Blättern vorhandenes Enzym die Überführung von Indican in Indigweiss, beziehungsweise Indigblau besorgt.

Ich begnüge mich mit diesen Bemerkungen und darf auf diesen Punkt nicht näher eingehen, da sich während meiner Anwesenheit auf Java die Herren Dr. v. Romburgh und J. J. Hazewinkel hier speciell mit dieser Frage beschäftigten und über ihre Ergebnisse voraussichtlich bald berichten werden.

III. Ist die Indicanentstehung vom Lichte abhängig?

a) Versuche mit *Isatis tinctoria*.

»Wenn man *Isatis*-Samen in Blumentöpfe säet und diese theils im Sonnenlichte, theils in totaler Finsterniss aufstellt, so kann man sich leicht überzeugen, dass nur die Lichtkeimlinge Indican bilden, die Finsterkeimlinge aber auch nicht in Spuren. Werden etwa 14 Tage alte Keimlinge, welche während des Tages durch mehrere Stunden directes Sonnenlicht genossen und reichlich Indican gebildet hatten, 2—3 Wochen finster gestellt, so verschwindet das Indican vollends«.[1]

Diese Beobachtung, die ich schon früher gemacht habe, regte mich zu weiteren Untersuchungen über die Frage nach der Abhängigkeit der Indicanentstehung vom Lichte an. Ich wiederholte zunächst diese Versuche, und zwar mit demselben Resultate. Immer enthielten schon die Cotylen der beleuchteten Keimpflanzen Indican, die der Dunkelkeimlinge aber nicht.

---

[1] Hans Molisch, Das Vorkommen und der Nachweis des Indicans etc., l. c., S. 16. — Die Prüfung auf Indican erfolgte in der von mir früher angegebenen Weise, indem die Keimlinge, Blätter oder Sprosse in Alkoholdampf eingelegt und dann mikroskopisch untersucht wurden. Anstatt Alkohol kann man, wie mir Herr Dr. van Romburgh mittheilte, auch Chloroformdampf anwenden; ich verwende sogar jetzt mit Vorliebe Chloroform, weil das Absterben der Pflanzentheile darin sehr rasch erfolgt.

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

Führt man einen Spross einer kräftigen, im Freien wachsenden Waidpflanze durch ein Loch so in einen Dunkelkasten, dass er sich in völliger Finsterniss befindet, während seine Schwesterzweige dem vollen Lichte ausgesetzt bleiben, so wächst der Zweig weiter, er etiolirt, die neuen gelben Blätter erreichen beträchtliche Grösse und aus ihren Achseln kommen Seitensprosse hervor.

Wie die Prüfung ergab, enthielten die älteren Blätter und Stengel kein Indican, hingegen die in der Nähe des Vegetationspunktes gelegenen, noch in der Knospe befindlichen Blättchen und der angrenzende Stengeltheil doch soviel von dem Glykosid, dass die betreffenden Theile sich in Chloroformdampf merklich hellblau färbten. Die beleuchteten Zweige derselben Pflanze führten in allen ihren Theilen relativ viel Indican.

b) Versuche mit *Polygonum tinctorium.*

12 Tage alte Keimlinge, die von Blättern nur die beiden Cotylen ausgebidet hatten, führten kein Indican, und zwar weder die belichteten, noch die verfinsterten. Nach 23 Tagen wurde dieselbe Saat wieder geprüft. Während dieser Zeit kamen die Finsterkeimlinge über die Ausbildung von zwei Cotylen nicht hinaus und enthielten auch jetzt keine indigblaugebende Substanz. Ebenso verhielten sich die Cotylen der Lichtkeimlinge; ihr erstes Laubblatt und die folgenden erzeugten hingegen leicht nachweisbare Mengen von Indican.

c) Versuche mit *Indigofera* Anil.

Am 25. November 1897 säete ich im Culturgarten von Tjikeumeuh bei Buitenzorg Samen von dieser Pflanze in vier Blumentöpfe. Zwei davon kamen ins Licht und wurden im Freien aufgestellt, die zwei anderen kamen in eine Dunkelkiste. Nach 6 Tagen hatten die mit zwei Cotylen versehenen Keimlinge keine Spur von Indican gebildet, weder im Lichte noch im Finstern. Als nach 13 Tagen wieder eine Probe untersucht wurde, erwiesen sich die Cotylen beider Pflanzen abermals als indicanfrei, in den zwei ersten Laubblättchen der Lichtkeimlinge aber war Indican vorhanden. Ebenso verhielten sich die Keimlinge nach 25 Tagen, doch muss betont werden, dass die

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

Pflänzchen im Finstern von Blättern nur die beiden Keimblätter ausbilden.

Indigofera-Keimlinge verhalten sich demnach wie die von *Polygonum:* die Cotyledonen haben, gleichgiltig ob beleuchtet oder verdunkelt, überhaupt nicht die Fähigkeit, Indican zu erzeugen, während den beleuchteten Cotylen des Waid dieses Vermögen zukommt.

Ein über 1 *m* hoher Strauch von *Indigofera* wurde in dem erwähnten Culturgarten mit einer grossen lichtdichten Kiste bedeckt und überdies noch, um einer zu grossen Erwärmung vorzubeugen, mit einem Palmenschattendach versehen. Schon nach 48 Stunden fiel ein grosser Theil der Blätter ab, nach 72 Stunden lagen alle Fiederblättchen, mit Ausnahme der ganz jüngsten, am Boden.[1]

Nach 21 Tagen war der Befund folgender: Zweige vollkommen entblättert und in ihren jüngeren Theilen abgestorben. Aus den alten basalen Stammtheilen kommen neue, völlig etiolirte Triebe von etwa 5—10 *cm* Länge hervor mit gelben Blättern, welche leicht nachweisbare Mengen von Indican enthalten. Als ich einzelne Zweige in eine Dunkelkiste durch einen Spalt einführte, während die Schwesterzweige dem Lichte ausgesetzt blieben, warfen die verfinsterten Sprosse gleichfalls alle Blätter ab, starben dann ab, ohne neue Triebe zu bilden.

d) Versuche mit *Marsdenia tinctoria.*

Dieselben Versuche, die mit *Indigofera*-Sträuchern gemacht wurden, führte ich auch mit *Marsdenia tinctoria*-Pflanzen im Buitenzorger Culturgarten aus.

Die durch Kisten völlig dunkel gehaltenen Pflanzen warfen ihre noch indicanhältigen Blätter nach und nach ab, entwickelten dann beblätterte etiolirte Sprosse, welche Indican führten. Ebenso verhielten sich einzelne Zweige, die für sich allein in den Dunkelkasten durch ein Loch eingeführt wurden und im Finstern verweilten, während die übrigen Sprosse der-

---

[1] Über den Einfluss des Lichtabschlusses auf den Laubfall vergl. H. Molisch, Untersuchungen über den Laubfall. Diese Sitzungsber., XCIII, I. Abth., 1886, S. 14 des Separatabdruckes.

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

selben Pflanze normalen Beleuchtungsverhältnissen ausgesetzt waren.

An der Pflanze befindliche Blätter, welche mit Stanniol in passender Weise zur Hälfte oder ganz verfinstert wurden, enthielten noch nach 16 Tagen beträchtliche Mengen von Indican in den verdunkelten Partien

Aus den vorstehenden Versuchen ergibt sich, dass die Indigopflanzen sich gegenüber dem Lichte und Lichtabschluss mit Rücksicht auf Indicanerzeugung nicht ganz gleich verhalten. Was zunächst die Keimpflanzen anbelangt, so bilden solche von *Isatis* nur im Lichte Indican, und zwar schon in den Cotylen, hingegen geht dieses Vermögen den nur erst zwei Keimblätter tragenden Pflänzchen von *Polygonum* und *Indigofera* völlig ab. Erst die aus den Knöspchen sich hervorschiebenden ersten Laubblätter bilden im Lichte Indican, im Finstern entwickeln sich diese Blätter überhaupt nicht, so dass hier der Vergleich nicht gezogen werden konnte.

Versuche mit älteren Pflanzen von *Indigofera, Marsdenia* und *Isatis* ergaben bei Verdunkelung der Sprosse und Blätter insofern ein einheitliches Resultat, als sie zeigten, dass Indican in solchen Blättern doch nachweisbar bleibt, und dass sogar in völlig etiolirten Sprossen, die in Finsterniss herangewachsen waren, Indican auftreten kann, bei *Isatis* allerdings nur in sehr geringer Menge. Ob solches Indican hier primär entsteht oder aus belichteten Sprossen eingewandert ist, vermag ich nicht zu entscheiden.

Die oben geschilderten Versuche mit *Isatis*-Keimlingen liessen es nicht als unmöglich erscheinen, dass zwischen Indicanbildung und der Kohlensäure-Assimilation irgend eine nähere Beziehung besteht. Der Umstand, dass im Finstern etiolirte Blätter verschiedener Indigopflanzen auch Indican produciren, wenn auch nur in geringer Menge, ist noch kein Gegenbeweis dafür, denn wir wissen ja, dass auch Stärke, obwohl primär nur bei der Kohlensäure-Assimilation entstehend, auch secundär in etiolirten Trieben auftreten kann. Etwas mehr Wahrscheinlichkeit gewänne die Sache schon, wenn sich quantitativ feststellen liesse, dass mit wechselnder Beleuchtung und Verdunkelung auch der Indicangehalt zunimmt und ab-

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

nimmt. Herr Hazewinkel, der gegenwärtige Leiter der Indigo-Versuchsstation in Klaten (Mittel-Java) hatte auf mein Ersuchen hin die grosse Güte, einige einschlägige Versuche zu machen und mir darüber Folgendes zu berichten:

»Die Versuche wurden derart ausgeführt, dass jeden Morgen um 5 Uhr von 12 Pflanzen sechs mittelst einer grossen viereckigen, die Pflanzen ganz umhüllenden Kappe vom Lichte völlig abgeschlossen wurden, während die sechs anderen unter den gewöhnlichen Verhältnissen blieben. Die Bestimmung des Indigo erfolgte nach dem technischen Verfahren von van Lookeren-Campagne, wobei jedoch die Oxydation mittelst Durchsaugen von Luft bewerkstelligt wurde. Zur quantitativen Bestimmung dienten nur Blätter.«

Die Ergebnisse finden sich in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

Nummer des Versuches	Datum		Production in Milligrammen Indigo pro 100 *g* Blätter						Differenz pro 100 *g* Blätter zu Gunsten der Beleuchtung
	Lichtabschluss	geerntet und analysirt	unbeleuchtet			beleuchtet			
			a	*b*	Mittel	*a*	*b*	Mittel	
1	24. Jänn.	25. Jänn.	236	231	233·5	254	247	250·5	+ 17
2	26. »	27. »	155	145	150	280	281	283·5	+133·5
3	29. »	30. »	211	219	215	268	274	271	+ 56
4	1. Febr.	2. Febr.	168	171	169·5	254	246	250	+ 80·5

Daraus ist also zu ersehen, dass thatsächlich bei *Indigofera* das Licht eine Vermehrung, die Verdunkelung aber eine Verminderung des Indicans bedingt. Höchstwahrscheinlich wären die gewonnenen Zahlen noch mehr zu Gunsten der Belichtung ausgefallen, wenn die Ernte und Analyse noch an demselben Tage und nicht erst nach 24 Stunden vorgenommen worden wäre, da ja in den tagsüber belichteten Blättern während der darauffolgenden Nacht Indican verschwinden konnte und wahrscheinlich auch verschwand.

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

Trotz dieses für unsere Frage ungünstigen Umstandes sprechen die Zahlen in den vier Versuchsreihen alle zu Gunsten einer Mehrproduction von Indican im Lichte.

Bekanntlich hat Treub[1] in einer sehr interessanten Arbeit gezeigt, dass bei *Pangium edule* die Bildung von Blausäure mit der Assimilation in enger Beziehung steht und dass aus Kohlehydraten und anorganischen Stickstoffverbindungen Blausäure als erstes mikrochemisch nachweisbares stickstoffhältiges Assimilationsproduct entsteht, wodurch die von Pflüger geäusserte Eventualität der Synthese organischer Stickstoffverbindungen aus Kohlehydraten und anorganischen Stickstoffverbindungen eine wichtige Stütze erhielt. Die Natur schlägt oft, um dasselbe Ziel zu erreichen, verschiedene Wege ein, und es wäre daher denkbar, dass bei den Indigopflanzen das stickstoffhältige Indican beim Aufbau des Eiweisses eine ähnliche Rolle spielt, wie die Cyanwasserstoffsäure bei *Pangium*. Es war mir leider in den Tropen nicht möglich, mich mit diesem Gegenstande eingehender zu beschäftigen; ich weiss daher sehr wohl, dass der geäusserte Gedanke vorläufig noch sehr wenig gestützt ist und spreche ihn daher vorläufig nur aus mit der in solchen Fällen gebotenen Reserve.

IV. Neue Indigopflanzen.

In meiner bereits citirten Arbeit[2] habe ich gezeigt, dass verschiedene Pflanzen in der Literatur als Indigopflanzen bezeichnet werden, die es nicht sind[3] und dass wir vorläufig nur berechtigt sind, folgende Gattungen als Indigo liefernde zu

[1] Treub M., Sur la localisation, le transport et le rôle de l'acide cyanhydrique dans le *Pangium edule* Reinw. Ann. d. jardin botanique de Buitenzorg. Vol. XIII, 1895, p. 1—69.

[2] H. Molisch, Das Vorkommen und der Nachweis des Indicans etc., l. c. S. 233 dieser Sitzungsber.

[3] Dass *Galega officinalis*, *Hedysarum Onobrychis*, *Polygonum Fagopyrum*, *P. Persicaria*, *Rhinanthus crista galli*, *Sophora japonica* und *Spilanthes oleracea* mit Unrecht als Indigopflanzen bezeichnet werden, hat bereits E. Schunk gezeigt. — Schunk, On indigo-blue from *Polygonum tinctorium* and other plants. The chemical News, vol. 39, p. 119, 129, 143. — Ein Referat darüber in Just's Botan. Jahresber. 1879, I, S. 359.

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

bezeichnen: *Isatis, Polygonum, Phajus, Calanthe, Marsdenia* und *Indigofera*, zu denen sich noch einige andere gesellen dürften.

Während meines Aufenthaltes in den Tropen lenkte ich meine Aufmerksamkeit auch darauf, ob es nicht noch andere, derzeit unbekannte Indigopflanzen gibt, und ich kann nun mittheilen, dass ich nicht vergebens darnach gesucht habe.

Echites religiosa T. et B.

Im botanischen Garten zu Buitenzorg wird auf der sogenannten Insel der genannte, zu den Apocyneen gehörige Strauch gezogen, dessen schneeweisse Blüthen mir dadurch auffielen, dass sie nach dem Abfallen beim Absterben stellenweise eine blaue Farbe annahmen. In der That stellte sich bald heraus, dass wir es hier mit einer Pflanze zu thun haben, welche reichlich Indigo liefert.

Wenn man einen blühenden beblätterten Spross in Chloroformdampf belässt, so verfärben sich die Blüthen alsbald blau, und wenn man weiters nach 24 Stunden den Zweig behufs Extraction des Chlorophylls in absoluten Alkohol bringt, so erscheinen nach Fortschaffung des Blattgrüns die Stengel braun, die alten Blätter bräunlich, die anderen um so blauer, je jünger sie sind. Die jüngsten sind tiefblau gefärbt. Ein so behandelter Spross lässt die Vertheilung des Indicans, beziehungsweise des Indigblaus mit einem Blicke übersehen. Siehe Fig. 1. Die in Fig. 2 abgebildete *Polygonum tinctorium*-Pflanze wurde nach derselben Methode behandelt.

Wurzel. In dieser konnte weder makro- noch mikrochemisch Indican nachgewiesen werden.

Stamm. Bei den jungen, noch in Entwicklung begriffenen Stengeltheilen ist Indican vorhanden, und zwar vorzugsweise im Bast und den Milchröhren.

Blatt. Dieses stellt, wie auch bei den anderen von mir untersuchten Indigopflanzen, den Hauptsitz des Glykosids dar, und zwar ist es vornehmlich das chlorophyllhältige Parenchym und auffallender Weise das die Nervatur begleitende Milchröhrensystem, welches die grösste Menge Indican enthält.

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

Ein in der vorhin angegebenen Weise behandeltes Blatt lässt, wenn mit Chloralhydrat aufgehellt, die den Gefässbündeln anliegenden Milchsaftbehälter als blaue, von zahllosen Indigokörnchen und Indigokryställchen erfüllte Röhren erscheinen, etwa so, als ob man die Röhren mit einem blauen Farbstoff infiltrirt hätte.

Blüthe. Kelch, Blumenkrone, Staubfäden und Fruchtknoten führen Indican, und zwar sind auch hier neben Epidermis- und Parenchymzellen die Milchröhren durch relativ grossen Indicangehalt ausgezeichnet.

Die aus *Echites* gewinnbare blaue Substanz stimmt, wie die mikrochemische Prüfung und ihr Verhalten überhaupt ergab, mit Indigo so überein, dass wir zweifellos *Echites religiosa* als Indigopflanze bezeichnen können.

Wrightia antidysenterica (Apocynee).

Wrightia tinctoria[1] wird als Indigopflanze bezeichnet, doch habe ich bisher keine Gelegenheit gefunden, die Pflanze daraufhin zu prüfen. Indess konnte ich aus der im botanischen Garten zu Buitenzorg cultivirten *Wrightia antidysenterica* Indigo mit Sicherheit gewinnen.

Die Vertheilung des Indicans ist hier ganz ähnlich wie bei *Echites*, auch hier ist das Blatt mit dem Chlorophyllparenchym der Hauptsitz des Glykosids.

Eine zweite hier cultivirte Art, *W. mollissima*, producirt kein Indican.

Crotalaria-Arten.

Aus *Crotalaria retusa* L. gewann Greshoff[2] Indigo. Ich untersuchte die anderen mir zugänglichen Arten und fand, dass sich nicht bloss aus der genannten Species, sondern auch aus *C. Cunninghamii*, *C. turgida* und *C. incana* Indigo gewinnen lässt, hingegen nicht aus *C. striata* DC., *C. capensis* und *C. verrucosa*.

[1] Drury, The useful plants of India, 1873.

[2] Mittheilung aus S'Land's Plantentuin, VII, p. 32.

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

V. Zusammenfassung der wichtigeren Resultate.

1. Von verschiedener Seite wurde mit Recht auf die auffallende Erscheinung aufmerksam gemacht, dass *Indigofera*-Blätter in den sogenannten Fermentirbassins schon nach etwa 6—8 Stunden den grössten Theil des Indicans an das Wasser abgeben. Die Untersuchung dieser eigenartigen Erscheinung hat zu dem unerwarteten Ergebniss geführt, dass die Blätter schon in dieser relativ kurzen Zeit in Folge von Sauerstoffmangel absterben. In Übereinstimmung damit werden die Blätter von *Indigofera* in reinem Wasserstoffgas, also bei Abschluss von Sauerstoffgas, schon innerhalb 7 Stunden empfindlich geschädigt und nach 12 Stunden getödtet. Analog wie *Indigofera* verhalten sich auch *Isatis tinctoria*, *Polygonum tinctorium* und viele andere Pflanzen.

2. Zur Bildung von Indigblau in und ausserhalb der todten Zelle ist Sauerstoff nothwendig.

3. Man war bisher der Meinung, dass es auf Grund der Untersuchungen von Alvarez einen specifischen Bacillus (microbe spécial) gibt, der Indican in Indigblau überführt und bei der Indigofabrication eine hervorragende Rolle spielt. Meine Untersuchungen hingegen zeigen, dass die Fähigkeit, aus Indican Indigblau zu bereiten, nicht auf eine oder einige wenige Bakterien beschränkt ist, sondern diesen Organismen recht häufig, ja sogar auch Schimmelpilzen zukommt.

Trotzdem aber spielen weder Bakterien, noch sonst welche Pilze bei der von mir auf Java studirten Indigoerzeugung aus *Indigofera* eine nennenswerthe Rolle, wie schon daraus schlagend hervorgeht, dass Bakterien in der Extractionsflüssigkeit der Fermentirbassins sehr spärlich sind und überdies durch Desinfection sogar darauf hinausgearbeitet wird, Bakterienentwiklung ja nicht aufkommen zu lassen. Die Indigobereitung auf Java ist — abgesehen von dem Austritt des Indicans aus dem in Folge von Sauerstoffmangel absterbenden Blättern — ein rein chemischer und kein physiologischer Process. Die Indigofabrication auf Java beruht demnach — entgegen der in den bakteriologischen Lehrbüchern allgemein vorgetragenen Lehre — nicht auf einen Gährungsprocess.

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

4. Die Abhandlung enthält eine Schilderung des auf Java üblichen Verfahrens der Indigobereitung.

5. Indican entsteht bei Indigopflanzen in gewissen Fällen (Keimlinge von *Isatis*) nur im Lichte, in anderen sowohl im Lichte als im Finstern, in den daraufhin untersuchten Fällen aber im Lichte reichlicher als im Dunkeln.

6. *Echites religiosa*, *Wrightia antidysenterica*, *Crotalaria Cunninghamii*, *C. turgida* und *C. incana* wurden als neue Indigopflanzen erkannt.

Erklärung der Tafel.

Fig. 1. *Echites religiosa*. Beblätterter blühender Spross, die Indicanprobe zeigend. Ähnlich wie bei der Stärkejodprobe übersieht man hier mit einem Blicke die Vertheilung des Indicans, beziehungsweise des Indigblau. Je jünger die Blätter, um so reicher an Indican. Auch die Blüthen enthalten Indican besonders in der Nähe der Gefässbündel.

» 2. *Polygonum tinctorium*. Junge Pflanze, die Indicanprobe zeigend. Die Wurzel, Cotylen und älteren Stengeltheile führen kein Indican, gegen die Endknospe zu nimmt die Indicanmenge immer mehr zu.

» 3. *Penicillium* sp. Cultur auf Gelatinindican. Schwache Vergrösserung, bei welcher die Querscheidewände nicht deutlich sichtbar waren. Zahlreiche Hyphen enthalten besonders an den wachsenden Enden Indigblau.

» 4. *Mucor Mucedo*. Vergr. 250. *a* ein verzweigtes, zum Theil mit Indigo erfülltes Mycelstück. *b* ein Sporangiumträger mit Spuren von Indigo.

» 5. Eine Agar-Indicancultur von *Cladothrix odorifera* Rullmann in natürl. Grösse. Die Colonien erscheinen als deutliche hell- bis tiefblaue oder weissgelbliche Punkte. Tiefblau, wenn sie über das Substrat in die Luft (den Sauerstoff) hineinragen; weissgelblich, wenn sie in das Substrat eingesenkt, d. h. dem Sauerstoff ziemlich entzogen sind.

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

1.

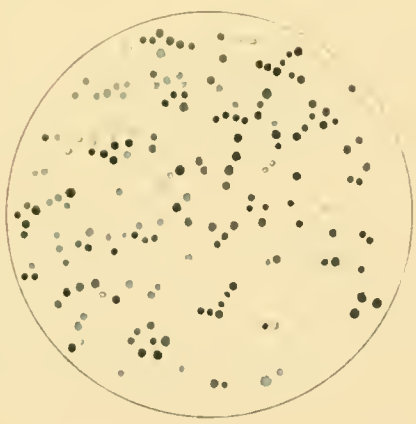
2.

3.

b

a

4.



5.

Lith. Anst. v. Th. Bannwarth, Wien

Sitzungsberichte d. kais. Akad. d. Wiss., math.-naturw. Classe, Bd. CVII. Abth. I. 1898.